

ANALIZA CIRKULIRAJOČIH TUMORSKIH CELIC V KRVI BOLNIC Z NAPREDOVALIM RAKOM JAJČNIKA VISOKEGA GRADUSA OB DIAGNOZI

Tanita Kranjc, Simona Miceska, Erik Škof, Maja Krajec, Brigita Gregorič, Breda Škrbinc, Veronika Kloboves Prevodnik

Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

Serozni rak jajčnika visokega visokega gradusa (ang. high-grade serous ovarian cancer, HGSC) je najpogostejši in najbolj agresiven histološki tip raka jajčnika, ki ga običajno odkrijemo v napredovalnem stadiju (stadij FIGO III in IV). Kljub napredkom v diagnostiki in zdravljenju, ostaja 5-letno preživetje manjše od 40%, kar nakazuje potrebo po novih napovednih dejavnikih. Cirkulirajoče tumorske celice (CTC) se vse pogosteje uporabljajo kot pomemben biološki označevalec pri različnih vrstah raka, vključno z rakom jajčnika. Kljub temu podatki o prisotnosti posameznih CTC in skupkov pri bolnicah s primarnim, napredovalim HGSC še vedno manjkajo, zlasti pri uporabi metod, ki vključujejo vpogled v celično morfolologijo. Cilj raziskave je bil opisati ohranjenost CTC ter določiti njihovo število in prisotnost CTC skupkov pri tej skupini bolnic z uporabo metode Parsortix, ki omogoča analizo celične morfolologije.

p10

V raziskavi, ki trenutno poteka na Onkološkem inštitutu Ljubljana, smo vključili bolnice s primarnim, napredovalim HGSC ob postavitvi diagnoze. Pred začetkom zdravljenja smo bolnicam odvzeli 10 ml periferne krvi za izolacijo CTC. Izolacijo CTC od ostalih imunskih celic v vzorcu smo izvedli z napravo Parsortix (Angle, UK), optimalno v 4 urah, najkasneje v 24 urah po odvzemu vzorca. Iz izolata smo pripravili tri citospine s centrifugo Cytospin 4 (Thermo Shandon Inc., ZDA). En citospin smo posušili na sobni temperaturi, ga pobarvali po metodi May-Grünwald-Giemsa (MGG), ostala dva citospina smo fiksirali v 100 % metanolu in shranili za nadaljnja testiranja. MGG preparate smo skenirali s skenerjem Nanozoomer (Hamamatsu, Japonska), nato pa smo iz skeniranih preparatov določili število CTC in CTC skupkov.

V raziskavo smo vključili 12 bolnic s primarnim, napredovalim HGSC. Mediana starosti bolnic je bila 59 let (razpon 33-77 let). Devet bolnic je bilo v stadiju FIGO III, tri bolnice pa v stadiju FIGO IV. Pri analizi celične morfolologije smo opazili, da je bila morfolologija celic boljše ohranjena v vzorcih, ki so bili izolirani v prvih 4 urah (oz. v tekočem dnevu), v primerjavi z vzorci, pri katerih je bila izolacija izvedena naslednji dan. Pri enajstih bolnicah smo opazili prisotnost vsaj ene CTC, pri osmih bolnicah smo opazili ≥ 5 CTC v MGG preparatu. Morfolologija posameznih CTC v vzorcu bolnic se je razlikovala, kar nakazuje na polimorfno CTC v krvi bolnic. Pri dveh bolnicah smo opazili prisotnost enodimenzionalnih skupkov benignih celic z obilno citoplazmo in ovalnimi, enako-velikimi monokromnimi jedri, vendar skupkov CTC nismo zaznali. Poleg tega smo pri štirih bolnicah v krvi identificirali tudi prisotnost megakariocitov.

Ugotovili smo, da čas izolacije pomembno vpliva na ohranjenost morfolologije celic. CTC so bile prisotne pri večini bolnic s primarnim, napredovalim HGSC, pri čemer so izkazovale polimorfizem. Prav tako smo zaznali prisotnost skupkov benignih celic, medtem ko nismo opazili skupkov CTC. Za boljše razumevanje pomena in vpliva števila ter polimorfizma CTC, kot tudi prisotnosti benignih celičnih skupkov na potek bolezni, so nujno potrebne nadaljnje študije.